

Rozdział 1

WYKORZYSTANIE WSPÓŁCZYNNIKA BIOAKUMULACJI (BCF) W OCENIE SKAŻENIA WÓD METALAMI CIĘŻKIMI NA PRZYKŁADZIE SŁODKOWODNEJ POPULACJI *ULVA* ZE ZBIORNIKA MALTAŃSKIEGO W POZNANIU

Andrzej Rybak¹, Beata Messyas¹ i Bogusława Łęska²

¹ Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii, Instytut
Biologii Środowiska, Umultowska 89, 61-614 Poznań

² Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Grunwaldzka 6,
60-780 Poznań

1. WPROWADZENIE

W ostatnich stuleciach w wyniku wzmożonej działalności gospodarczej człowieka do wód morskich i słodkich dostają się coraz wyższe ładunki metali ciężkich. Wraz ze ściekami komunalnymi i przemysłowymi metale te dostają się z wodami rzek i kanałów do jezior i mórz stają się przyczyną wielu problemów, wpływając przede wszystkim na stabilność w funkcjonowaniu ekosystemów wodnych i zamieszkujących je organizmów.

Wykorzystanie organizmów jako bioindykatorów dla skażenia wód metalami ciężkimi jest bardzo powszechne. Zarówno glony, jak i bezkręgowce są zdolne do akumulowania metali w swoich tkankach. Niejednokrotnie akumulacja przebiega bardzo wydajnie, przez co koncentracja metali w tkankach może być nawet kilka tysięcy razy większa, niż stężenie tych samych metali w wodzie, czy osadzie z bezpośredniego otoczenia (Bryan i Langstrom, 1992; Förster, 1976; Rai i in., 1981).

Również makroglony wykorzystuje się w monitoringu zanieczyszczenia wód metalami ciężkimi (Phillips, 1977; Lobban i Harrison, 1997). Z pośród makroglonów stosuje się w tym procesie gatunki należące zarówno do

krasnorostów (Muse i in., 1995), brunatnic (Bryan i Hummerston, 1973) jak i zielenic (Villares i in., 2001, 2002; Orduna-Rojas i Langoria-Esponzoa, 2006). Z powyższych grup systematycznych największą wydolność w akumulowaniu metali posiadają zielenice, a najmniejszą krasnorosty (Al-Shwafi i Rushdi, 2008). W monitoringu skażenia metalami ciężkimi najczęściej wykorzystuje się taksony z gromady zielenic (Chlorophyta). Z kolei w obrębie tej gromady najpełniej pod względem bioakumulacji zbadano morskie gatunki z rodzaju *Ulva* (błonica) (Ulvophyce, Ulvaceae) (Ho, 1990; Say i in., 1990; Haritonidis i Malea, 1999).

W badaniach dotyczących bioakumulacji metali ciężkich przez gatunki z rodzaju *Ulva* nie wykorzystywano do tej pory populacji słodkowodnych tych taksonów, rozwijających się w ekosystemach takich jak: rzeki, stawy, jeziora czy strumienie. Słodkowodne stanowiska błonic obserwowano już od około 1895 roku i do tej pory na terenie Polski stwierdzono obecność 83 stanowisk (Messyasz i Rybak, 2009), Stanów Zjednoczonych ~ 30 stanowisk (Taft, 1964; Reinke, 1981) i Czech ~ 20 stanowisk (Mareš, 2009). We wszystkich wymienionych stanowiskach obserwowano jedynie taksony o plesze tubokształtnej w zarysie i jednokomórkowej szerokości w przekroju poprzecznym (np. *U. flexuosa* subsp. *pilifera* M. J. Wynne). Gatunków o plesze liściokształtnej i o dwukomórkowej szerokości (np. *U. lactuca* L.) nie odnotowano jak dotąd w ekosystemach słodkowodnych (Messyasz i Rybak, 2009).

W odniesieniu do mórz i oceanów przeprowadzono już znaczną ilość badań dotyczących oceny stopnia skażenia ich wód przez metale ciężkie przy wykorzystaniu gatunków z rodzaju *Ulva*. Niestety brak jest danych o możliwościach wykorzystania słodkowodnych populacji *Ulva* w ocenie skażeń słodkowodnych wód powierzchniowych, szczególnie takich ekosystemów jak jeziora, czy rzeki.

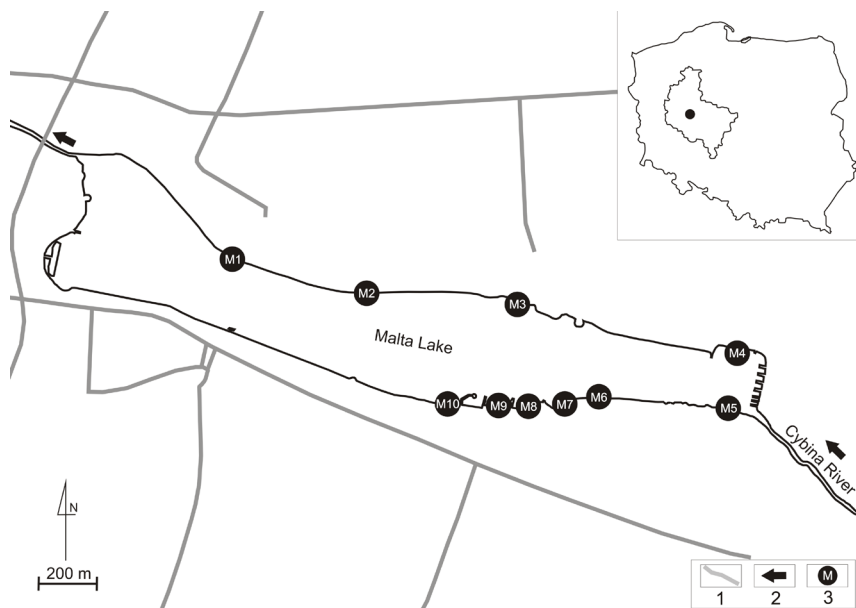
Celem pracy było uzyskanie szczegółowych informacji o możliwości zastosowania słodkowodnej populacji błonicy w biomonitoringu i ocenie skażenia wód powierzchniowych z wykorzystaniem współczynnika bioakumulacji (BCF - biocentration factor).

2. MATERIAŁY I METODY

2.1. TEREN BADAŃ – ZBIORNIK MALTAŃSKI

Badania prowadzono w miesiącach letnich (czerwiec – sierpień) w 2010 roku w optimum rozwoju słodkowodnych populacji *Ulva*. Próbkę plech *Ulva* pochodziły z ekosystemu wodnego o antropogenicznej genezie, zlokalizowanego na terenie Wielkopolski (Centralna Europa, Polska, Poznań). Stanowiska słodkowodnej zielenicy ulokowane były w Zbiorniku Maltańskim (znanym

również jako jezioro Maltańskie) (10 stanowisk) (Ryc. 1). Jezioro Maltańskie jest zbiornikiem wybudowanym w 1952 roku i od tego czasu intensywnie wykorzystywanym rekreacyjnie. Powierzchnia jeziora wynosi 0,64 km² przy długości 2,2 km, szerokości 0,46 km i głębokości średniej wynoszącej ok. 3 m. W części zachodniej Zbiornika Maltańskiego wpływa rzeka Cybina, która dalej wypływa z jego wschodniej części i następnie kieruje wody do rzeki Warty. Stanowiska słodkowodnej błonicy występowały w jeziorze Malta na północnym (stanowiska M1 – M4) i południowym brzegu (M5 – M10). Plechy błonicy rozwijały się w stanowiskach, w których dno było bardzo zróżnicowane pod względem struktury i pochodzenia (od ograniczanego przez piaszczyste do kamienisto-żwirowego). W stanowiskach M1 – M10, z których pobierano próby wody, plech i osadów głębokość wód wynosiła od 0,20 do 1,50m a miąższość osadów do 5 cm.



Ryc. 1. Lokalizacja stanowisk badawczych na Zbiorniku Maltańskim w Poznaniu. 1 – drogi, 2 – kierunek spływu wód, 3 – stanowiska badawcze.

2.2. POBIERANIE PRÓB

Plechy, które pobrano z badanych stanowisk zidentyfikowano jako gatunek *Ulva flexuosa* subsp. *pilifera* M. J. Wynne (błonica oszczepowata) (Ryc. 2), ale ze

względu na znaczne podobieństwo morfologiczne plech do innych taksonów nie udało się kilku próbek zidentyfikować do poziomu gatunku. Podobne problemy w identyfikacji gatunków *Ulva* napotkali inne badacze analizujący zdolność bioindykacyjną tych zielenic w ekosystemach morskich (Villares i in., 2001).



Ryc. 2. Plechy blonicy oszczepowatej ze stanowiska badawczego nr M10 zlokalizowanego na Zbiorniku Maltańskim (25.06.2010 r., fot. A. Rybak).

Próbki wody pobierano w tych samych stanowiskach co próby plech i osadu. Wodę po pobraniu ze stanowiska umieszczano w 0,5 L plastikowym pojemniku i transportowano w chłodni (4°C) do laboratorium w czasie do 3h. Próby wody konserwowano w terenie przy użyciu 15% HNO_3 . W laboratorium próby filtrowano przez nitrocelulozowy sączełk mikrobiologiczny o średnicy porów 0,45 μm . Prześfiltrowaną próbę wody przelewano do 100 ml pojemników i deponowano w zamrażarce utrzymując temperaturę -20°C.

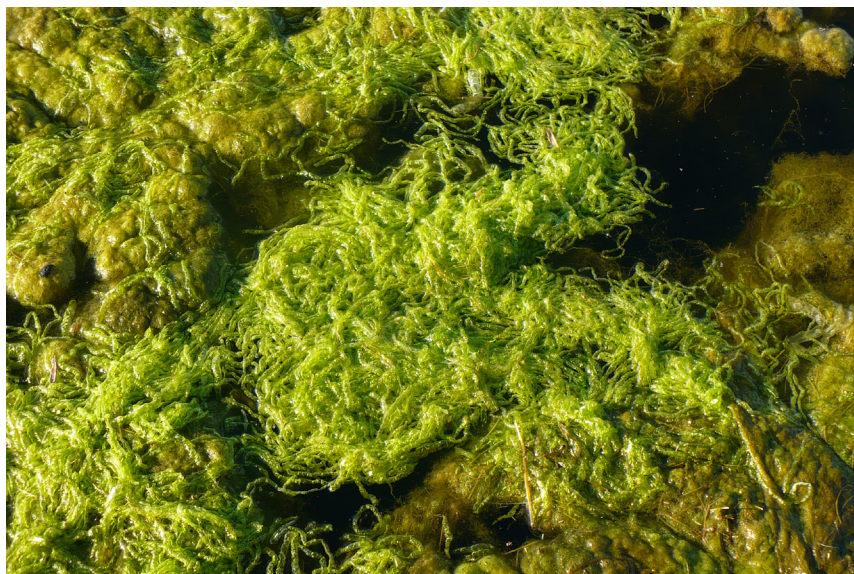
Próbki osadu pobierano bezpośrednio spod mat *Ulva* za pomocą plastikowego czerpacza rurowego do osadów, o średnicy rury 5 cm i długości 1 m. Do analiz pobierano jedynie powierzchniową warstwę osadu o miąższości 1cm. Osad umieszczano w plastikowym pojemniku i przetransportowano w chłodni do laboratorium. Następnie osad przesiano przez nylonowe sita (średnica oczek od 1 mm do 500 μm) w celu usunięcia szczątków roślinnych,

piasku, kamieni i innych zanieczyszczeń. Otrzymaną frakcję osadu suszono przez 2h w temperaturze 105 °C i umieszczano w plastikowych pojemnikach o pojemności 100 ml. Próby zdeponowano w wentylowanej szafie na odczynniki chemiczne utrzymującą stałą temperaturę 19°C, bez dostępu światła.

Próby plechy pobierano ręcznie przez rękawice ochronne z środkowej części maty makroglonowej, którą tworzyła *Ulva* w każdym stanowisku badawczym (Ryc. 3 i 4). Pobierano ok. 500g plechy, którą przepłukiwano pięciokrotnie wodą z danego stanowiska. Plechy następnie umieszczono w plastikowym pojemniku o pojemności 1 litra i przetransportowano w chłodni do laboratorium. Plechy ponownie przepłukiwano pięciokrotnie wodą destylowaną w celu usunięcia zawleczonych glonów nitkowatych, fragmentów roślin naczyniowych i innych zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych. Plechy osuszano przez 30 min. na bibule celulozowej w temperaturze pokojowej. Następnie plechy suszono przez 2h w temperaturze 105 °C, a otrzymaną suchą masę umieszczono finalnie w plastikowych pojemnikach o pojemności 100 ml. Do czasu dalszych analiz plechy przechowywano w szafie na odczynniki chemiczne (temperatura - 19°C, bez dostępu światła).



Ryc. 3. Wolno unosząca się po powierzchni wody mata zbudowana przez błonicę oszczepowatą przy południowym brzegu Zbiornika Maltańskiego (stanowisko M10, 25.06.2010 r., fot. Andrzej Woyda-Płoszczyca).



Ryc. 4. Tubokształtne plechy błonicy oszczepowatej w macie z współwystępującymi glonami nitkowatymi z rodzaju *Oedogonium* (stanowisko M10, 25.06.2010 r., fot. Andrzej Woyda-Płoszczyca).

2.3. EKSTRAKCCJA METALI Z PLECH BŁONIC

Z każdej próbki glonów odważono 0,5 g plechy przeznaczonej do mineralizacji. Materiał umieszczono w bombach teflonowych, do których dodano 5 ml 30% H_2O_2 i 15 ml 65% HNO_3 . Bomby umieszczono w piecu mikrofalowym MarsX5 i poddano mineralizacji w dwóch etapach: I - czas: 300s i moc: 400W; II - czas 300s i moc: 800W. Po ostudzeniu próby umieszczano w plastikowych pojemnikach.

2.4. EKSTRAKCCJA METALI Z OSADU

Labilną frakcję ekstrahowano przy użyciu 1 M HCl; próbki pozostawiono na noc, aby usunąć burzenie roztworu wynikające z wydzielania CO_2 , który powstawał z rozkładu węglanów. Następnie próbki wstrząsano mechanicznie przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, ekstrakt wirowano przy 5000 rpm przez 2 minuty. Ekstrakcja metali została przeprowadzona przez wytrawienie 0,4 g osadów. Następnie pobrany materiał umieszczono w bombach teflonowych. Do każdej próbki dodano 5 ml 30% H_2O_2 i 15 ml 65% HNO_3 . Bomby umieszczono w piecu mikrofalowym MarsX5 i poddano mineralizacji w dwóch etapach: I -

czas: 600s i moc: 800W; II - czas 180s i moc: 800W. Po zakończeniu procesu mineralizacji i ostudzeniu, przesączono próbki przez papierowe sączki w celu oddzielenia materiału, który nie uległ roztworzeniu (SiO_2). Przesącz przelano do plastikowych pojemników.

2.5. EKSTRAKCJA METALI Z WODY

Ekstrakcję metali przeprowadzono na próbce wody o objętości 25 ml. Do bomby teflonowej przelano 25 ml próbki i uzupełniono 5 ml 30% H_2O_2 i 15 ml 65% HNO_3 . Następnie bomby umieszczono w piecu mikrofalowym MarsX5 i poddano mineralizacji w dwóch etapach: I - czas: 360s i moc: 400W; II - czas 360s i moc: 800W.

Próbki po ostudzeniu przelano do plastikowych pojemników.

Wszystkie zmineralizowane próbki wody, plech i osadów zostały poddane analizie ilościowej i jakościowej Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb i Zn przy pomocy optycznej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w indukowanej plazmie (ICP-OES). Kalibracja została przeprowadzona z użyciem standardowych roztworów wzorcowych. Stężenie metali w plechach *Ulva* i osadzie podano w $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. (suchej masy).

2.6. WSPÓŁCZYNNIK BIOAKUMULACJI METALI (BIOCONCENTRATION FACTOR)

Współczynnik bioakumulacji metali (bioconcentration factor, tzw.: BCF) jest wskaźnikiem określającym zdolność organizmów do akumulacji metali w odniesieniu do ich stężenia w otaczającym środowisku. BCF został zaprezentowany i przetestowany przez Zayed'a i in. (1998) w oparciu o stężenia danego pierwiastka mierzone w wodzie, osadzie oraz tkankach roślin naczyniowych. BCF można obliczyć z następującego wzoru:

$$\text{BCF} = \frac{\text{Średnia koncentracja metalu w tkance roślinnej } (\mu\text{g/g suchej masy})}{\text{Średnia koncentracja metalu w wodzie } (\mu\text{g/ml}) \text{ lub osadzie } (\mu\text{g/g})}$$

3. WYNIKI

3.1. SIEDLIŚKO SŁODKOWODNEJ POPULACJI BŁONICY OSZCZEPOWATEJ

Maty *Ulva* rozwijały się w litoralu Zbiornika Maltańskiego w bliskim towarzystwie roślin naczyniowych, zwłaszcza *Phragmites australis*, *Potamogeton perfoliatus* i *P. pectinatus*. Pojedyncze plechy *Ulva* w jeziorze obserwowano pod koniec maja; jedynie jako nieliczne zalegające i płożące się

po dnie drobne nitki o długości kilku centymetrów i szerokości 0,5 – 1,0 mm. Jako wolno unoszące się na powierzchni wody maty, w największej biomacie słodkowodna *Ulva* występowała pod koniec czerwca i w lipcu; natomiast w sierpniu plech zielenicy już nie odnaleziono. Plechy *Ulva* rozwijały się w stanowiskach, w których obecne była zróżnicowana struktura i budowa dna od ograniczanego przez piaszczyste do kamienisto-żwirowego o zmiennym nachyleniu. W stanowiskach M1-M10, z których pobierano próby wody, plech i osadów, głębokość wód wynosiła od 0,20 do 1,50m. W wodach stanowisk *Ulva* przewodnictwo elektrolityczne wynosiło od 607,0 do 804,0 $\mu\text{S cm}^{-1}$, pH od 6,57 do 8,99 a koncentracje Cl^- nie przekraczały 65,50 mg L^{-1} (Tabela 1).

Tabela 1. Parametry fizyczno-chemiczne wód w stanowiskach badawczych na Zbiorniku Maltańskim.

Parametr	Głębokość	Temp.	Kondukcja	Tlen	pH	Cl^-
Jednostki	(m)	(°C)	($\mu\text{S cm}^{-1}$)	(mg L^{-1})	-	(mg L^{-1})
Stanowisko						
M1	1,20-1,25	24,1-26,4	627,01-667,0	6,80-10,01	8,64-8,85	61,25-63,75
M2	1,20-1,50	21,0-25,0	607,01-668,0	8,93-10,34	8,47-8,69	63,50
M3	0,25-0,30	20,9-25,0	639,0-804,78	3,58-7,60	7,40-8,77	62,50-64,25
M4	0,50-0,75	24,6-26,6	665,01-671,0	6,20-9,70	8,70-8,99	59,25-64,75
M5	0,20-0,25	21,9-26,4	617,01-681,0	4,44-9,25	8,24-8,74	61,37-65,50
M6	0,50-0,60	21,0-27,7	616,01-677,0	8,10-11,85	8,54-8,88	60,25-62,75
M7	0,30	21,1	636,0	9,30	8,53	63,0
M8	0,50-0,70	21,4-27,9	639,0-679,0	7,02-9,74	8,53-8,81	61,50-65,25
M9	1,20	22,7	624,01	10,9	8,74	62,50
M10	1,20-1,40	22,60-25,9	632,0-659,0	8,22-10,56	5,57-8,85	61,75-63,0

3.2. KONCENTRACJE METALI W PLESZE SŁODKOWODNEJ BŁONICY OSZCZEPOWATEJ

Średnie koncentracje metali w tkance słodkowodnej błonicy występującej w Zbiorniku Maltańskim zmniejszały się w następującym porządku: $\text{Mn} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Co} > \text{Cd}$, natomiast w wodzie: $\text{Mn} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Cd}$ i w osadzie: $\text{Ni} > \text{Cr} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu}$. Średnie koncentracje Mn, Cr, Ni, Zn, Cu, Pb, Co i Cd w plesze słodkowodnej *Ulva* wyniosły kolejno: 549,90 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m., 253,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m., 152,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m., 36,34 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m., 18,47 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m., 3,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m., 3,46 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. i 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. (Tabela 2). Najwyższe koncentracje kadmu w plesze błonicy rozwijającej się w jeziorze odnotowano na początku lipca w stanowisku M6 (1,03 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m.);

na trzech stanowiskach koncentracje tego pierwiastka przez cały okres badawczy były poza zakresem wykrywalności (M1, M7 i M10). Najwyższe koncentracje kobaltu w plesze słodkowodnej *Ulva* zanotowano na stanowisku M6 na początku czerwca ($8,83 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) a najniższe koncentracje Co zanotowano w plesze pobranej ze stanowiska M4 na początku lipca ($0,63 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). W całym czasie poboru prób występowały fluktuacje w koncentracji kobaltu w plechach na stanowiskach M1, M4, M6, M8 i M10. Na stanowiskach M2 i M3 zanotowano wzrost koncentracji kobaltu w stosunku do prób pobranych tydzień wcześniej. W plechach błonicy ze stanowiska M5 występował stały spadek koncentracji Co z poziomu $8,30 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. zanotowanego w czerwcu do zaledwie $1,66 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. na końcu lipca. W odniesieniu do ołowiu, który występował w najwyższych koncentracjach jedynie na stanowisku M9 w czerwcu ($10,5 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) tylko stężenia pierwiastka na stanowisku M6 były poniżej progu wykrywalności w połowie czerwca; na pozostałych stanowiskach koncentracje Pb były $> 0,75 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. Na wszystkich stanowiskach notowano niekierunkowe zmiany w koncentracji ołowiu w plesze w czasie rozwoju makroglona. Koncentracje miedzi w plesze błonicy były najwyższe na początku czerwca na stanowisku M6 ($70,63 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). Najniższe koncentracje miedzi występowały na początku lipca w plechach pobranych ze stanowiska M4 ($5,89 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). W plechach ze stanowisk M2 i M3 obserwowano w okresie badań niewielki wzrost koncentracji miedzi z kolei z M1 i M5 spadek, a w pozostałych przypadkach wahania w poziomie badanego metalu.

Tabela 2. Średnie wartości i zakres koncentracji badanych metali w tkankach słodkowodnej błonicy, osadzie i wodzie ze wszystkich stanowisk w obrębie Zbiornika Maltańskiego (koncentracje metali: $\mu\text{g g}^{-1}$ suchej masy dla tkanek błonicy i osadu; $\mu\text{g ml}^{-1}$ dla wody ze zbiornika). Liczbę próbek podano w nawiasach.

	Plecha błonicy		Osad		Woda	
	x \pm SE	Zakres	x \pm SE	Zakres	x \pm SE	Zakres
Cd	0,1 \pm 0,005 (30)	PPW* – 1,0	\pm 0,03 (30)	0,07 – 1,0	PPW	PPW
Co	3,46 \pm 0,44 (29)	0,63 – 8,83	1,90 \pm 0,42 (30)	0,48 – 9,20	PPW	PPW
Cr	253,25 \pm 34,89 (29)	43,06 – 676,06	7,15 \pm 1,24 (30)	1,97 – 36,74	0,13 \pm 0,01 (30)	0,06 – 0,16
Cu	18,47 \pm 2,80 (29)	5,89 – 70,63	43,53 \pm 12,38 (30)	0,14 – 306,65	0,02 \pm 0,01 (30)	0,01 – 0,03
Mn	549,90 \pm 42,02 (29)	140,51 – 1120,73	268,81 \pm 70,80 (30)	21,72 – 1637,40	0,10 \pm 0,01 (30)	0,03 – 0,23
Ni	152,2 \pm 20,45 (30)	25,2 – 417,1	5,7 \pm 1,0 (30)	1,7 – 24,0	1,6 \pm 0,47 (30)	– 6,2
Pb	3,9 \pm 0,55 (30)	PPW – 14,7	18,2 \pm 5,64 (30)	1,20 – 113,30	PPW	PPW
Zn	36,34 \pm 10,61 (29)	6,80 – 322, 72	40,32 \pm 7,09 (30)	6,88 – 173,10	0,03 \pm 0,01 (30)	0,01 – 0,06

*PPW – poniżej progu wykrywalności.

Maksymalny poziom cynku ($173,10 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) w plechach słodkowodnej błonicy był obserwowany w stanowisku M4 na początku lipca a minimalny na poziomie $6,88 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. zanotowano w plesze zebranej ze stanowiska M5 na końcu lipca. Na wszystkich stanowiskach z wyjątkiem M2 i M3, gdzie odnotowano niewielki wzrost poziomu Zn z kolejnych okresów poboru prób, notowano wahania koncentracji tego metalu.

Najwyższe stężenie niklu zanotowano w połowie lipca w plechach ze stanowiska M6 ($417,06 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). Wysokie koncentracje niklu występowały także w czerwcu na stanowisku M5 ($388,09 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) i M10 ($339,50 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). W stanowiskach M6, M8 i M10 obserwowano fluktuację w koncentracji niklu w plechach. Natomiast w plechach ze stanowisk M2, M3 i M4 odnotowano wzrost koncentracji tego metalu w stosunku do wcześniej analizowanych próbek z tych stanowisk. Spadek stężenia niklu w kolejnych datach poboru plech, obserwowano na dwóch stanowiskach – M1 i M5.

Najwyższe koncentracje chromu w plesze zanotowano w połowie lipca na stanowisku M6 ($676,06 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.), a najniższe na poziomie $43,06 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. na początku lipca na stanowisku M4. W czasie rozwoju makroglona koncentracje chromu w plesze w kolejnych okresach poboru prób wzrosły prawie trzykrotnie na stanowiskach M2 i M3. Zanotowano fluktuację w koncentracji Cr z plech pochodzących ze stanowisk M4, M6 i M7 oraz wyraźny spadek koncentracji Cr z poziomu $648,55 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. oznaczonego na początku czerwca do $103,77 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. na końcu lipca.

Najwyższy poziom manganu ($1120,73 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) był obserwowany w tkance makroglona pobranej ze stanowiska M7 a najniższy ($140,51 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) zanotowano w plechach rozwijających się na stanowisku M10. W komórkach glona pobranego ze stanowisk M3 i M10 stwierdzono wzrost koncentracji Mn w kolejnych okresach poboru prób. Jedynie w plechach ze stanowiska M2 zaobserwowano spadek poziomu Mn z $449,71 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. do $226,44 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.

3.3. WSKAŹNIK BIOKONCENTRACJI

Maksymalne wartości wskaźnika biokoncentracji (BCF) (koncentracja metalu w plesze / koncentracja metalu w wodzie) dla słodkowodnych populacji błonicy, którą badano w jeziorze, zanotowano dla manganu przez cały okres występowania makroglona we wszystkich badanych stanowiskach (Tabela 3). Wartości BCF wahały się od 2058 do powyżej 10000. Najwyższy BCF zanotowano 11 lipca na stanowisku M10 i wynosił on 19851. Notowane wartości BCF dla błonicy były zróżnicowane przestrzennie oraz czasowo (Ryc. 5 i 6). Na przykładzie stanowiska M3, M8 i M10 zaobserwowano wyraźny wzrost BCF w kolejnych tygodniach poboru prób plechy (Tabela 3). Z kolei na

stanowiskach M1, M2 i M6 zanotowano sytuację odwrotną. Jedynie dla ołowiu oszacowany BCF był bardzo niski (od 0 do 534) z wyjątkiem jednego przypadku ze stanowiska M9, gdy wartość BCF przekroczyła 1000. Średnie wartości BCF dla Mn, Cr, Ni, Zn, Cu, Pb, z całego sezonu badawczego i wszystkich stanowisk były następujące: 7033, 2137, 857, 1354, 1217, 301.

Niemożliwe było oszacowanie BCF dla Co i Cd ze względu na stężenie tych metali w wodzie poza zakresem wykrywalności.

Bardzo wysokie wartości BCF notowano dla wszystkich pierwiastków przez większość czasu okresu badawczego na stanowisku M5 i M6 zlokalizowanych przy wpływie rzeki Cybiny do Zbiornika Maltańskiego (Tabela 3).

Tabela 3. Wskaźnik biokoncentracji (BCF) metali ciężkich dla błonicy oszczepowatej ze Zbiornika Maltańskiego. BCF obliczony dla koncentracji metali zanotowanych w plesze i wodzie.

Stanowisko	Data poboru prób	Wskaźnik biokoncentracji – BCF (koncentracja metalu w plesze [$\mu\text{g g}^{-1}$] / koncentracja metalu w wodzie [$\mu\text{g ml}^{-1}$])							
		Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
M1	01.07.2010	b. d.	-	716,44	590,50	3237,64	b. d.	b. d.	951,50
	11.07.2010	-	-	1303,92	1159,00	6898,38	1005,40	282,00	485,50
	16.07.2010	-	-	1241,17	691,00	6277,43	7,43	126,00	306,25
M2	11.06.2010	-	-	769,53	1024,00	<i>14990,33</i>	459,73	-	1074,50
	25.06.2010	-	-	2229,93	1034,50	2058,55	1314,20	517,00	1437,00
M3	01.07.2010	-	-	401,23	520,50	6721,60	237,13	113,00	252,50
	11.07.2010	-	-	3655,00	648,50	<i>14410,75</i>	1341,80	527,00	496,50
M4	01.07.2010	-	-	307,57	294,50	5753,17	157,50	-	170,00
	11.07.2010	-	-	1562,50	363,00	10359,00	570,70	314,00	235,25
	23.07.2010	-	-	1510,57	572,50	2413,44	21,11	150,00	184,00
M5	11.06.2010	-	-	4323,67	3424,00	3727,69	2587,27	519,00	8068,00
	25.06.2010	-	-	3714,93	2248,00	9164,71	2077,94	94,00	1686,00
	11.07.2010	-	-	4291,50	964,00	6615,50	1596,00	482,00	514,33
	16.07.2010	-	-	868,80	864,00	<i>13467,83</i>	12,87	144,00	359,75
	23.07.2010	-	-	691,80	892,00	5799,56	10,55	83,00	814,50
M6	18.06.2010	-	-	4309,07	2354,33	6514,86	2439,27	0	2795,50

Stanowisko	Data poboru prób	Wskaźnik biokoncentracji – BCF (koncentracja metalu w plesze [$\mu\text{g g}^{-1}$] / koncentracja metalu w wodzie [$\mu\text{g ml}^{-1}$])							
		Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
	25.06.2010	-	-	1188,00	2121,00	5019,90	660,69	158,50	870,50
	01.07.2010	-	-	2360,50	1652,00	4482,91	1423,64	413,00	929,50
	11.07.2010	-	-	3123,83	757,00	3492,47	1160,60	108,00	274,00
	16.07.2010	-	-	4829,00	1824,00	3399,30	68,48	365,00	1094,33
M7	18.06.2010	-	-	2528,53	1691,33	9339,42	1505,27	-	5835,00
M8	18.06.2010	-	-	1502,33	1651,00	5469,92	892,33	375,00	2098,50
	01.07.2010		-	2504,46	907,50	4498,71	1220,94	534,00	1121,00
	16.07.2010	-	-	775,62	355,00	6177,67	10,13	91,50	385,40
	23.07.2010	-	-	682,43	1162,00	<i>13165,17</i>	9,65	187,00	1904,33
M9	25.06.2010	-	-	945,27	1000,50	2923,92	566,80	1050,00	858,67
M10	25.06.2010	-	-	3653,93	2356,00	1405,10	2121,88	-	2967,50
	01.07.2010	-	-	962,31	578,00	6630,57	462,33	372,00	276,40
	11.07.2010	-	-	5044,67	1602,00	<i>19851,00</i>	75,86	221,00	828,67

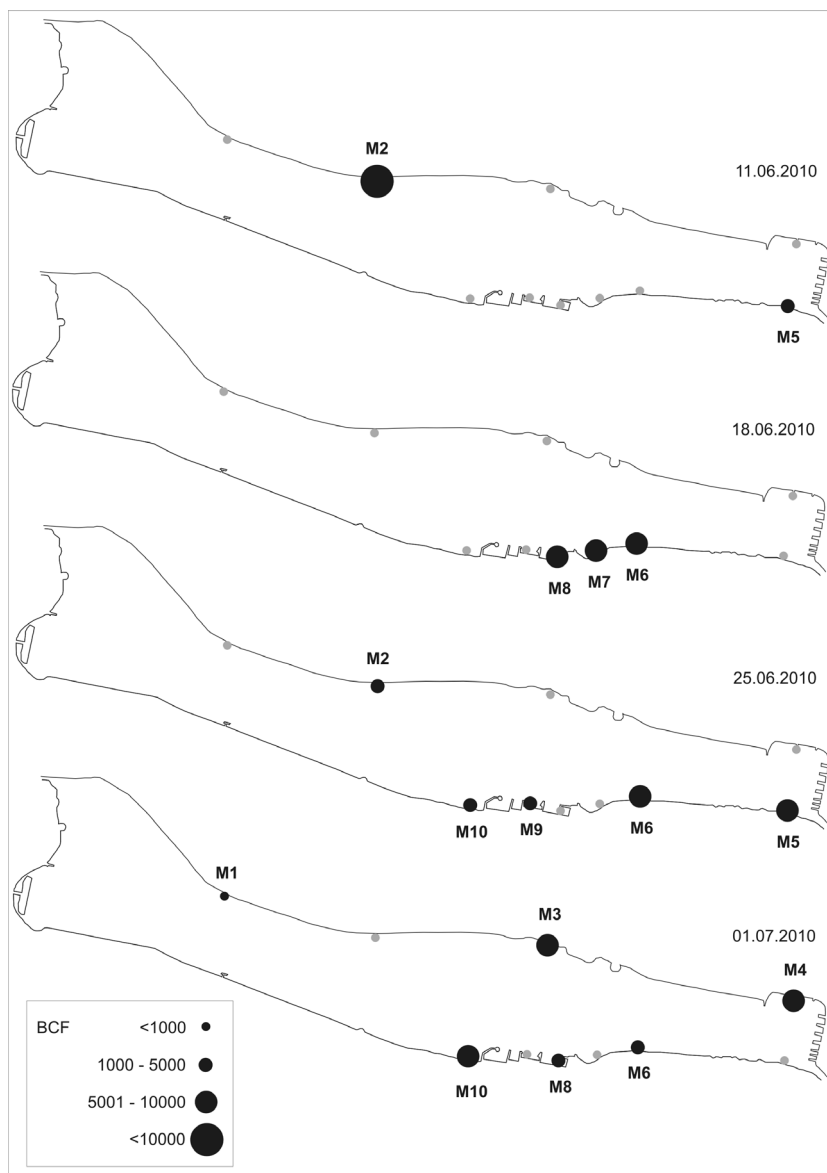
b. d. – brak danych, **pogrubienie** – $BCF > 1000$, wyróżnienie – $BCF > 10000$.

Wartości BCF wyliczone dla plechy i frakcji osadu były bardzo niskie (Tabela 4). Jednakże najwyższy BCF wyliczony dla tego układu zanotowano dla chromu analizowanego w plesze słodkowodnej błonicy, pobranej ze stanowiska M5 na końcu czerwca ($BCF = 282,86$) oraz dla niklu z tego samego stanowiska i dnia poboru prób ($BCF = 162,98$).

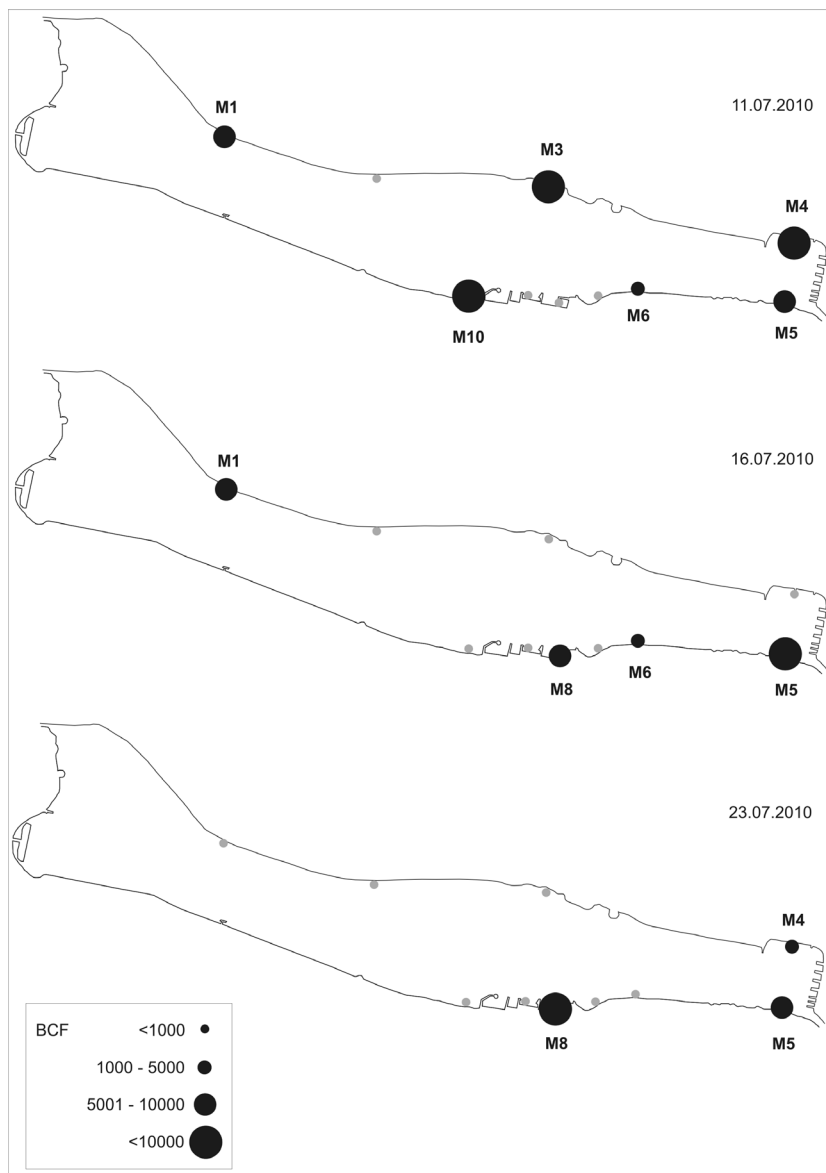
Tabela 4. Wskaźnik biokoncentracji (BCF) metali ciężkich dla błonicy oszczepowatej ze Zbiornika Maltańskiego. BCF obliczony dla koncentracji metali zanotowanych w pleśze i osadzie.

Stanowisko	Data poboru prób	Wskaźnik biokoncentracji – BCF (koncentracja metalu w pleśze [$\mu\text{g g}^{-1}$] / koncentracja metalu w osadzie [$\mu\text{g g}^{-1}$])							
		Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
M1	01.07.2010	b. d.	0,96	21,19	0,53	1,18	b. d.	b. d.	0,50
	11.07.2010	0	0,27	14,38	0,06	2,88	17,16	0,02	0,18
	16.07.2010	0	0,56	2,03	0,22	2,69	1,91	0,11	0,27
M2	11.06.2010	0	2,33	19,53	0,14	3,41	25,35	0,28	0,70
	25.06.2010	0	2,48	21,26	0,70	1,19	76,70	0,06	0,85
M3	01.07.2010	0,5	0,83	10,23	0,40	7,19	12,56	0,35	0,95
	11.07.2010	0	3,03	35,54	4,60	24,63	39,23	1,87	1,54
M4	01.07.2010	0,19	0,07	2,67	0,02	0,88	1,53	0,01	0,04
	11.07.2010	0,59	0,40	15,94	0,16	2,61	11,94	0,31	0,16
	23.07.2010	0	1,37	23,16	0,50	1,23	32,87	0,10	0,23
M5	11.06.2010	0	1,15	134,28	2,14	0,30	131,56	0,16	2,50
	25.06.2010	13,43	10,75	282,86	1,64	0,39	162,98	0,30	2,29
	11.07.2010	0	6,66	82,27	0,06	1,71	9,75	0,72	0,35
	16.07.2010	0	3,73	49,93	61,71	37,19	45,49	2,40	0,96
	23.07.2010	0	2,44	32,43	63,71	24,03	38,21	1,53	4,74
M6	18.06.2010	0	8,03	208,02	1,44	3,35	47,33	0	1,14
	25.06.2010	0	5,27	46,89	5,04	2,30	45,76	1,20	1,88
	01.07.2010	5,15	5,74	96,07	1,02	2,73	79,72	1,61	1,27
	11.07.2010	1,33	1,79	35,23	0,37	4,77	34,54	0,21	0,55
	16.07.2010	0	9,67	197,10	2,71	14,07	134,54	1,11	1,48
M7	18.06.2010	0	2,67	43,65	0,51	3,43	13,57	0,43	1,00
M8	18.06.2010	0	1,92	57,05	1,16	2,06	21,15	0,19	0,69
	01.07.2010	0	5,69	73,66	2,26	3,59	44,20	1,51	1,12
	16.07.2010	1,43	2,03	32,21	0,39	8,82	25,14	0,68	1,22
M9	23.07.2010	0	1,31	17,06	0,47	7,07	14,20	0,66	1,47
	25.06.2010	7,14	1,34	33,28	0,79	1,76	30,69	0,90	1,12
M10	25.06.2010	0	11,44	95,65	1,65	1,40	160,90	0,48	5,44
	01.07.2010	0	1,76	22,75	1,02	6,49	19,87	0,74	0,82
	11.07.2010	0	5,39	19,77	3,82	21,77	18,12	1,05	1,11

b. d. – brak danych.



Ryc. 5. Przestrzenne i czasowe zróżnicowanie współczynnika biokoncentracji (BCF) dla Mn w plechach słodkowodnej populacji błonicy z Zbiornika Maltańskiego w Poznaniu (czerwiec i początek lipca 2010).



Ryc. 6. Przestrzenne i czasowe zróżnicowanie współczynnika biokoncentracji (BCF) dla Mn w plechach słodkowodnej populacji błonicy z Zbiornika Maltańskiego w Poznaniu (lipiec 2010).

4. DYSKUSJA

4.1. BŁONICA JAKO BIOINDYKATOR SKAŻENIA ŚRODOWISKA WODNEGO METALAMI CIĘŻKIMI

Organizmy zaliczane do bioindykatorów skażeń środowiska wodnego charakteryzują się kilkoma ważnymi cechami, szczegółowo opisanymi przez Phillips'a (1977, 1990) i Rainbow'a i Phillips'a (1993). Najważniejsze jest by takie organizmy były osiadłe, łatwe do identyfikacji i kosmopolityczne (Rainbow i Phillips, 1993; Melville i Pulkownik, 2007). Bioindykatory powinny również być bardzo czułe na zanieczyszczenia i tolerować ich duże koncentracje w środowisku (Rainbow i Phillips, 1993). Badane w pracy słodkowodne populacje błonicy reprezentują rodzaj kosmopolityczny. Jego przedstawicieli spotyka się we wszystkich częściach świata, z wyjątkiem rejonów arktycznych (Bäck i in., 2000). W literaturze przedmiotu dostępne są wyniki badań dotyczących jedynie wykorzystania gatunków z rodzaju *Ulva* w monitoringu wód morskich i oceanicznych (Maela i Haritonidis, 1999; Tabudravu i in., 2002) oraz estuariów (Say i in., 1990). Brak danych o powyższym zastosowaniu w stosunku do populacji błonic, które występują w ekosystemach słodkowodnych, takich jak jeziora, rzeki, stawy i strumienie.

Szereg koncentracji metali notowanych w plechach słodkowodnej błonicy, dla populacji jeziornej przedstawiał się w następującym porządku: Mn>Cr>Ni>Zn>Cu>Pb>Co>Cd. Dla *U. rigida* z zatoki Tharmaikos w Grecji szereg względnego występowania metali w glonie był następujący: Mg>Na>K>Ca>Pb>Fe>Mn>Zn>Cr>Cu>Ni>Co>Cd (Maela i Haritonidis, 2000). Dla innej populacji *U. rigida* porastającej kamienie w Zatoce Palude della Rosa szereg ten układał się w porządku: Al>Fe>Mn>Zn>Cu>Ni>Pb>Cr>Co>Cd (Favero i in., 1996); gdy dla populacji tego gatunku występującego w Morzu Egejskim i okoliach Dardenalles kolejność wyglądała z kolei następująco: Zn>Cu>Pb>Cd (Boubonari i in., 2008; Ustanada i in., 2010). Szeregi metali ciężkich, szczególnie dla morskich gatunków takich jak *U. rigida* z Wenecji czy *U. compressa* (Favero i in., 1996; Al-Shwafi i Rushdi, 2008) są bardzo zbieżne z szeregami obserwowanymi dla słodkowodnej *Ulva*.

4.2. ZRÓŻNICOWANIE POZIOMU AKUMULACJI METALI

Spośród badanych metali ciężkich w plechach słodkowodnej błonicy w najwyższym stężeniu występował mangan ($1120,73 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). Bardzo wysokie koncentracje tego pierwiastka powyżej $1721 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. zanotowano w tkance morskiego gatunku *Ulva reticulata*, badanego u wybrzeży Goa w Indiach (Agadi i in. 1978). W literaturze brak informacji odnoszących się do stężenia manganu z plech błonic morskich, które przekraczają $1000 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.

Większość doniesień informuje o koncentracjach Mn w zakresie od 18-911 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. Najwyższe koncentracje chromu w słodkowodnej błonicy ze Zbiornika Maltańskiego zanotowano na poziomie 676 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. W literaturze brak doniesień o odnotowaniu tak wysokich koncentracji tego metalu w gatunkach morskich błonic. Najwyższe znane koncentracje chromu zanotowano w plesze *Ulva rigida* (28,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) zebranej w greckiej Zatoce Thermaikos (Maela i Haritonidis 2000). Notowane koncentracje niklu w plesze słodkowodnej *Ulva* były bardzo wysokie i dochodziły nawet do 417,06 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. Do tej pory najwyższe koncentracje niklu w zakresie od 7,64 do 339,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. zanotowało u liściokształtnych gatunków *Ulva* sp. (oznaczone jako *Enteromorpha* sp.) badanych u wybrzeży Galicji (Puente, 1992). W plechach najpospolitszego gatunku w basenie Morza Bałtyckiego - *U. intestinalis*, zebranych z wybrzeża Szwecji, koncentracje niklu nie przekraczały 70,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. (Hägerhäll, 1973). Najwyższe koncentracje cynku w słodkowodnej błonicy zanotowano na poziomie 322 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. W plechach nie oznaczonych do gatunku błonic (podane jako *Enteromorpha* sp.) badanych w brytyjskiej części wybrzeża Morza Północnego koncentracje Zn dochodziły nawet do 437 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. W nielicznych przypadkach koncentracje tego pierwiastka w plesze morskich błonic przekraczały próg 140 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. (Maela i Haritonidis 1999; Favero i in. 1996). Z kolei najwyższe koncentracje miedzi w tkance badanej słodkowodnej błonicy wynosiły 70,63 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. Prawie dwukrotnie wyższe koncentracje Cu zanotowano w plesze *U. lactuca* pobranej z zatoki nieopodal Hong Kongu w Chinach (Wong i in. 1982). U innych gatunków z tego rodzaju nie notowano tak wysokich koncentracji miedzi w tkankach. Najniższe koncentracje Cu stwierdzono w plesze *U. rigida* z Zatoki Thermaikos (Favero i in. 1996). Koncentracje ołowiu w plesze jeziornej *Ulva* wynosiły od poniżej progu wykrywalności do 14,73 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. W plechach *U. linza* zebranych z zatoki Thermaikos koncentracje Pb wynosiły nawet 87,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. (Maela i Haritonidis, 1999). Wysokie koncentracje Pb zanotowano również u *U. flexuosa* (do 62 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m.), którego plechy zebrano z estuarium na wyspie Viti Levu (Tabudravu i in., 2002) czy u *U. lactuca* (7,8 – 87,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) z okolic Suez (Abdallah i in., 2005). Kobalt jest jednym z rzadziej badanych pierwiastków pod względem poziomu akumulacji w tkankach błonic. W słodkowodnej błonicy zanotowano maksymalne koncentracje Co do zaledwie 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. W znanych doniesieniach dla gatunków morskich najwyższe koncentracje Co występowały w plesze *U. fasciata* (wybrzeże nieopodal Goa) (Agadi i in. 1978). Dla gatunku takiego jak: *U. rigida* zebranego z Morza Śródziemnego u wybrzeży Włoch i Grecji koncentracje Co wahały się od 0,14 do 4,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. Koncentracje kadmu w plechach słodkowodnej błonicy były bardzo niskie i wynosiły od 0 do 1,03 $\mu\text{g g}^{-1}$ s. m. W stanowiskach jeziornych

w większości przypadków koncentracje Cd były poniżej progu wykrywalności (DL= 0,001). Dolne zakresy notowanych koncentracji dla Cd ($\sim 0,10 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.) u gatunków takich jak: *U. compressa* – populacja Izraelska (Hornung i in., 1992) i *U. linza* z greckiej zatoki Thermaikos (Maela i Haritonidis, 1999) czy populacji *Ulva* sp. z wybrzeża Chorwacji i Wielkiej Brytanii (Say i in., 1990; Munda i Hudnik, 1991) są podobne do średnich koncentracji badanego metalu notowanych w plesze słodkowodnej błonicy ($\sim 0.14 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m.). Wahbeh i in. (1985) w plesze *U. clathrata* notował koncentracje kadmu na poziomie $8.1 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. Również u morskich populacji takich gatunków jak *U. compressa* i *U. lactuca* notowano koncentracje Cd, kolejno nawet do 7.8 i $5.3 \mu\text{g g}^{-1}$ s. m. (Andrade i in., 2006; Abdallah i in., 2005). Notowane wartości były średnio od 40 do 50 razy wyższe niż w próbkach plech słodkowodnej błonicy. Słaba akumulacja kadmu wydaje się być cechą typową dla wszystkich gatunków z rodzaju *Ulva* reprezentujących zarówno typ budowy o monostromatycznej i tubularnej, jak i dystromatycznej i liściokształtnej plesze. Przedstawione powyżej szeregi informują także o zróżnicowanym potencjale akumulacyjnym poszczególnych gatunków (np. dla *U. lactuca* i *U. linza*), a także ich różnic pomiędzy populacjami tego samego gatunku (np. *U. rigida*), jak i podobieństw międzygatunkowych (np. *U. rigida* – *U. lactuca*). Wielu ekologów morza zwraca również uwagę, że zmiany kolejności metali w szeregu akumulacyjnym danego gatunku może wynikać także z uwarunkowań lokalnych tj. stopnia zanieczyszczenia wód przybrzeżnych, liczby źródeł zanieczyszczeń i czasu wymiany wód w basenie morza czy zatoki (Wong i in., 1982; Kamala-Kannan i in., 2008).

4.3. BCF A POTENCJAŁ AKUMULACYJNY SŁODKOWODNEJ POPULACJI BŁONICY

Wartości otrzymanego BCF dla koncentracji metali z plechy i wody wskazują na bardzo wysoki potencjał akumulacyjny w przypadku manganu i chromu w porównaniu z pozostałymi badanymi pierwiastkami. Otrzymane wyniki potwierdzają, że słodkowodne populacje błonicy są hiperakumulatorami manganu. Zanotowano jednakże bardzo niskie wartości BCF dla Pb (maksymalny BCF wyniósł zaledwie 1050), co dyskredytuje słodkowodną błonice w aplikacyjnych zastosowaniach w stosunku do tego pierwiastka. Bazując na kryteriach podanych przez Zayed'a (1998), który jako pierwszy podał zasadność stosowania wskaźnika biokoncentracji w ocenie zastosowania roślin wodnych w fitoremediacji. Jedynie przypadki, w których notowano BCF powyżej 1000, należy uznawać za potwierdzenie użyteczności rośliny np. w fitoremediacji. W niniejszej pracy wartości wskaźnika biokoncentracji

przekraczające 1000 zanotowano w odniesieniu do Mn, Cr, Cu i Zn. Tym samym nie zaleca się wykorzystania słodkowodnej błonicy w fitoremediacji metali takich jak: Cd, Co i Pb.

W badaniach nad akumulacją metali przez gatunki naczyniowych roślin wodnych, prowadzonych przez Thiébaud i in. (2010) ze wszystkich badanych metali również dla Mn wyznaczono najwyższy BCF (stosunek koncentracji metalu w tkance do koncentracji w wodzie). W przypadku *Elodea canadensis* (moczarka kanadyjska) BCF wynosił 743 a dla *E. nuttallii* (moczarka delikatna) 547. Natomiast najniższe wartości BCF zanotowano dla Cu, Cr i Pb w przypadku obu badanych makrofitów (Thiébaud i in., 2010). W badaniach Khellaf i Zerdaoui (2010) nad fito akumulacją metali przez *Lemna gibba* (rzęsa garbata) wartości BCF, które osiągały zakres od 300 do 966 zanotowano dla Cu a w stosunku do niklu BCF wynosił od 33 do 100. W pracy Aisien i in. (2010), w której badano fitoremediację na przykładzie *Eichhornia crassipes* (hiacynt wodny) maksymalne wartości BCF dla Zn, Pb i Cd wynosiły kolejno: 1674, 1531 i 1479. Powyższe wyniki potwierdzają założenie, że rośliny naczyniowe prowadzą mniej wydajną akumulację metali z roztworu, niż glony. W badaniach eksperymentalnych określono, że makroglon nitkowaty *Pithophora varia* cechuje się nawet do dziesięciokrotnie wyższą wydolnością w bioakumulacji Zn i Cu, niż rośliny naczyniowe (Michalak i Chojnacka, 2008). Prosta budowa plechy i komórek będzie również miała swoje odzwierciedlenie w wyższym poziomie BCF obserwowanym u glonów, niż u roślin wyższych.

Uzyskane w pracy wyniki badań prowadzonych bezpośrednio w środowisku występowania słodkowodnej błonicy, dostarczają istotnych informacji o zdolnościach do akumulowania metali przez tę grupę glonów. Dane te w kontekście możliwego wykorzystania plech błonic w fitoremediacji wód skażonych metalami, zwłaszcza: manganem, chromem, miedzi oraz cynkiem; wnoszą kolejne potencjalne możliwości zastosowania błonic w procesie oczyszczania wód np. poprzemysłowych w opozycji do stosowanych obecnie metod mechanicznych i chemicznych. Hiperakumulacja miedzi przez słodkowodne populacje błonic informuje także o możliwości zastosowania tego makroglona jako dodatku paszowego dla trzody chlewnej czy drobiu. Odpowiednia biodostępność tego mikroelementu z paszy zawierającej suchą plechę błonic dla zwierząt hodowlanych jest zapewniona dzięki tworzeniu biokompleksów miedzi z białkami w komórkach błonic. Taka forma związanych mikroelementów jest najłatwiej przyswajalną przez zwierzęta. Konieczne jest zatem przeprowadzenie dalszych szczegółowych badań nad bioakumulacyjnym potencjałem słodkowodnych błonic celem ich gospodarczego wykorzystania.

PODZIĘKOWANIA

Badania finansowano z grantu MNiSW numer N N 304 013 437 oraz projektu GDWB-07/2011. Współautor - Andrzej Rybak jest stypendystą w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego (działanie 8.2.2 PO KL).

LITERATURA

1. Abdallah, A.M.A., Abdallah, M.A., Beltagy, A.I., 2005. Contents of heavy metals in marine seaweeds from the Egyptian coast of the Red Sea. *Chemistry and Ecology* 21, 399–411.
2. Agadi, V.V., Bhosle, N.B., Untawale, A.G., 1978. Metal concentration in some seaweeds of Goa. *India Botanica Marina* 21, 247–250.
3. Aisien F.A., Faleye, O., Aisien, E.T., 2010. Phytoremediation of Heavy Metals in Aqueous Solutions. *Leonardo Journal of Sciences* 17, 37–46.
4. Al-Shwafi, N.A., Rushdi, A.I., 2008. Heavy metal concentrations in marine green, brown, and red seaweeds from coastal waters of Yemen, the Gulf of Aden. *Environmental Geology* 55(3), 653–60.
5. Andrade, S., Medina, M.H., Moffett, J.W., Correa, J.A., 2006. Cadmium-copper antagonism in seaweeds inhabiting coastal areas affected by copper mine waste disposals. *Environmental Science and Technology* 40(14), 4382–4387.
6. Bäck, S., Lehvo, A., Blomster, J., 2000. Mass occurrence of unattached *Enteromorpha intestinalis* on the Finnish Baltic Sea coast. *Annales Botanici Fennici* 37, 155–161.
7. Boubonari, T., Malea, P., Kevrekidis, T., 2008. The green seaweed *Ulva rigida* as a bioindicator of metals (Zn, Cu, Pb and Cd) in a low-salinity coastal environment. *Botanica Marina* 51(6), 472–484.
8. Bryan, G.W., Hummerstone, L.G., 1973. Brown seaweed as indicator of heavy metals in estuaries in south-west England. *Journal of Marine Biology Association* 53, 705–720.
9. Bryan, G.W., Langston, W.J., Hummerstone, L.G., Burt, G.R., 1985. A guide to the assessment of heavy metal contamination in estuaries using biological indicators. *Marine Biological Association of the United Kingdom, Occasional Publication*.
10. Favero, N., Cattalini, F., Bertaggia, D., Albergoni, V., 1996. Metal accumulation in a biological indicator (*Ulva rigida*) from the Lagoon of Venice (Italy). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31(1), 9–18.
11. Förster, P., 1976, *Concentrations and concentration factors of heavy metals in brown algae*. *Environmental Pollution* 10, 45–53.

12. Hägerhäll, B., 1973. Marine botanical-hydrographical trace element studies in the Öresund area. *Botanica Marina* 16, 53–64.
13. Haritonidis, S., Malea, P., 1999. Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece. *Environmental Pollution* 104, 365–372.
14. Ho, Y.B., 1990. *Ulva lactuca* as bioindicator of metal contamination in intertidal waters in Hong Kong. *Hydrobiologia* 203, 73–81.
15. Hornung, H., Kress, N., Friedlander, M., 1992. Trace element concentrations intertidal algae collected along the Mediterranean shore. *Israel Fresenius Environmental Bulletin* 1, 84–89.
16. Kamala-Kannan, S., Prabhu Dass Batvari, B., Lee, K.J., Kannan, N., Krishnamoorthy, R., Shanthi, K., 2008. Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (*Ulva lactuca*) in the Pulicat Lake, south east India. *Chemosphere* 71(7), 1233–1240.
17. Khellaf, N., Zerdaoui, M., 2010. Growth response of the duckweed *Lemna gibba* L. to copper and nickel phytoaccumulation. *Ecotoxicology* 19(8), 1363–1368.
18. Lobban, C.S., Harrison, P.J., 1997. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, *United Kingdom*.
19. Malea, P., Haritonidis, S., 1999. Metal content in *Enteromorpha linza* (Linnaeus) in Thermaikos Gulf (Greece). *Hydrobiologia* 394, 103–112.
20. Malea, P., Haritonidis, S., 2000. Use of the green alga *Ulva rigida* C. Agardh as an indicator species to reassess metal pollution in the Thermaikos Gulf, Greece, after 13 years. *Journal of Applied Phycology* 12(2), 169–176.
21. Mareš, J., 2009. Combined morphological and molecular approach to the assessment of *Ulva* (Chlorophyta, Ulvophyceae) in the Czech Republic. Master thesis. University of South Bohemia, Faculty of Science, Department of Botany, Czech Republic.
22. Melville, F., Pulkownik, A., 2007. Investigation of mangrove macroalgae as biomonitors of estuarine metal contamination. *Science of the Total Environment* 387(1-3), 301–309.
23. Messyas, B., Rybak, A., 2009. The distribution of green algae species from the *Ulva* genera (syn. *Enteromorpha*; Chlorophyta) in Polish inland waters. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 38(1), 121–138.
24. Michalak, I., Chojnacka, K., 2008. The application of macroalga *Pithophora varia* Wille enriched with microelements by biosorption as biological feed supplement for livestock. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88(7), 1178–1186.

25. Munda, I.M., Hudnik, V., 1991. Trace metal content in some seaweeds from the Northern Adriatic. *Botanica Marina* 34, 241–249.
26. Muse, J.O., Tudino, M.B., d’Huicque, L., Troccoli, O.E., Carducci, C.N., 1995. A survey of some trace elements in seaweeds from Patagonia, Argentina. *Environmental Pollution* 87, 249–253.
27. Orudña-Rojas, J., Langoria-Espinoza, R.M., 2006. Metal content in *Ulva lactuca* (Linnaeus) from Navachiste Bay (Southeast Gulf of California) Sinaloa, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 77, 574–580.
28. Phillips, D.J.H. 1990. Use of macroalgae and invertebrates as monitors of metal levels in estuaries and coastal waters, in: Furness, R.W., Rainbow, P.S. (Eds.), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, Florida, pp. 81–99.
29. Phillips, D.J.H., 1977. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments. *Environmental Pollution* 13, 281–317.
30. Puente, X., 1992. Metais pesados en organismos bentónicos dos esteiros de Galicia. Tesis de Licenciatura. University of Santiago de Compostela, pp. 58.
31. Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981. *Phycology of heavy metal pollution*. *Biological Reviews* 56, 99–151.
32. Rainbow, P.S., Phillips, D.J.H., 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin* 26(11), 593–601.
33. Reinke, D.C., 1981. *Enteromorpha*, a Marine Alga in Kansas. *Transactions of the Kansas Academy of Science* 84(4), 228–230.
34. Say, P.J., Burrows, J.G., Whitton, B.A., 1990. *Enteromorpha* as a monitor of heavy metals in estuaries. *Hydrobiologia* 195, 119–126.
35. Tabudravu, J.N., Gangaiya, P., Sotheeswaran, S., South, G.R., 2002. *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh (Chlorophyta: Ulvales) - evaluation as an indicator of heavy metal contamination in a tropical estuary. *Environmental Monitoring and Assessment* 75(2), 201–213.
36. Taft, C.E., 1964. The occurrence of *Monostoma* and *Enteromorpha* in Ohio. *The Ohio Journal of Science* 64(4), 272–273.
37. Thiébaud, G., Gross, Y., Gierlinski, P., Boiché, A., 2010. Accumulation of metals in *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii*: Implications for plant-macroinvertebrate interactions. *Science of the Total Environment* 408(22), 5499–5505.
38. Ustunada, M., Erdugan, H., Yilmaz, S., Akgul, R., Aysel, V., 2010. Seasonal concentrations of some heavy metals (Cd, Pb, Zn, and Cu)

- in *Ulva rigida* J. Agardh (Chlorophyta) from Dardanelles (Canakkale, Turkey). Environmental Monitoring and Assessment doi: 10.1007/s10661-010-1637-7.
39. Villares, R., Puente, X., Carballeira, A., 2001. *Ulva* and *Enteromorpha* as indicators of heavy metal pollution. *Hydrobiologia* 462(1-3), 221–232.
 40. Villares, R., Puente, X., Carballeira, A., 2002. Seasonal variation and background levels of heavy metals in two green seaweeds. *Environmental Pollution* 119(1), 79–90.
 41. Wahbeh, M., 1984. Levels of Zn, Mn, Mg, Fe and Cd, in three species of seagrasses from Agaba (Jordan). *Aquatic Botany* 20, 179–183.
 42. Wong, M.H., Kwok, T.T., Ho, K.C., 1982. Heavy metals in *Ulva lactuca* collected within Tolo Harbour, an almost landlocked sea. *Hydrobiological Bulletin* 16(2–3), 223–30.
 43. Zayed, A., Gowthaman, S., Terry, N., 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. duckweed. *Journal of Environmental Quality* 27(3), 715–21.

